

令和 4 年 5 月 18 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18998

研究課題名（和文）HMGB1-RAGE axis制御による歯周炎及び血糖値の改善メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of improvement of periodontitis and blood glucose level by HMGB1-RAGE axis control

研究代表者

芥川 桂一（Akutagawa, Keiichi）

広島大学・医系科学研究科（歯）・専門研究員

研究者番号：40826369

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：近年、歯周炎と糖尿病の間に関連が示されている。糖尿病患者における歯周炎の進行に、炎症性サイトカインのHMGB1と、糖尿病の原因物質AGEの受容体であるRAGE間の経路の関与が示唆されており、HMGB1-RAGE経路の制御が双方の病態へ与える効果の検討が必要であった。研究代表者は、歯周炎と糖尿病を併発させたモデルマウスにHMGB1の阻害作用があるglycyrrhizinを用いて双方の病態への影響を評価した。glycyrrhizinは歯肉でのHMGB1及びRAGEの発現を抑制し、空腹時血糖値を抑制した。このことから、HMGB1制御が糖尿病と歯周病双方の病態に改善効果を与えることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題の成果から、歯周炎と糖尿病の相互関係にHMGB1-RAGE経路が関与しているということ、及びHMGB1産生の原因となる歯周炎を抑制することで糖尿病の病態における空腹時の血糖値が改善するという新規知見が得られた。

また、今回使用したglycyrrhizinは生体に対する毒性が低く応用もしやすいため、これを用いる事で国民の80%が罹患している国民病とも言われる歯周炎と糖尿病の双方への治療法が開発可能であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：So far, a link has been shown between periodontitis and diabetes. In particular, it has been suggested that the HMGB1-RAGE pathway is involved in the progression of periodontitis in diabetic patients, and it is necessary to investigate whether control of the HMGB1-RAGE pathway has the effect of improving the pathophysiology of periodontitis and diabetes. The principal investigator evaluated the effects on both pathological conditions by using model mice with both periodontitis and diabetes and glycyrrhizin, which has an inhibitory effect on HMGB1. Glycyrrhizin suppressed the expression of HMGB1 and RAGE in the gingiva, and also suppressed the fasting blood glucose level of model mice. Thus, it was suggested that suppressing HMGB1 would improve the pathophysiology of both diabetes and periodontal disease.

研究分野：歯周病

キーワード：歯周病 HMGB1 RAGE

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯周炎は、歯周病原細菌感染によって生じる歯周組織の慢性炎症であり、その結果として結合組織の破壊や歯槽骨の吸収が生じる疾患である。歯周炎によって歯周組織で産生され、そこから血中に入った細菌やサイトカインは肝臓や脂肪組織などの臓器で炎症応答を引き起こすことで血中のサイトカインレベルを上昇させる。この上昇したサイトカインレベルは、インスリン抵抗性を上昇させ糖尿病の病態を増悪させ宿主を易感染性とすることで、歯周病がさらに悪化するという負のスパイラルを形成している。炎症関連タンパクである HMGB1 は、歯周炎を誘発した歯周組織において増加することが知られており、細胞外において糖尿病 (DM) の原因物質である AGEs の受容体である RAGE をはじめとしたパターン認識受容体と結合することで炎症性サイトカイン産生を促進する。細胞外に放出された HMGB1 は血管を介して脂肪細胞、肝臓等の臓器において炎症を誘発する。全身での炎症状態の悪化は glucose transporter type 4 (GLUT4) を介した細胞内へのグルコースの取り込みを阻害し、血糖値を上昇させる。このことから、HMGB1 は歯周炎由来の炎症による血糖値増悪のメカニズムにおいて重要な役割を果たしていると考えられる。また、DM 患者の歯周組織で RAGE が上昇していることが報告されていることから、糖尿病患者における歯周炎の進行には、HMGB1-RAGE axis の関与が示唆される。そこで、HMGB1 阻害剤として知られている glycyrrhizin に着目し、申請者がこれまでに確立した DM モデルマウスに対し絹糸結紮と犬猫類の歯周病原細菌である *Porphyromonas gulae* を併用して歯周炎を誘発した Periodontitis-Diabetes mellitus モデルマウス (P-DM mouse) に対し用いる事で、HMGB1-RAGE axis 制御による歯周炎、糖尿病双方の病態へ与える効果の評価と新規治療法の開発が可能であると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、P-DM mouse を用いて、HMGB1-RAGE 経路が歯周炎と DM 双方の病態にどのような形で関連しているか、また、HMGB1 の制御が歯周組織の炎症と血糖値にどのような影響を与え、この研究成果が両疾患の病態改善及び新規治療法の開発に寄与できるかという学術的な問いに対し、glycyrrhizin を用いて口腔内からアプローチすることで、HMGB1 制御が与える影響を評価することを目的とした。

3. 研究の方法

以下の実験を計画した。

- 1) P-DM mouse において、HMGB1-RAGE axis を介して炎症・血糖値が増悪することを立証するモデルの確立・評価
P-DM mouse の歯周組織での HMGB1、RAGE 及び発現の評価及び血清中での炎症性サイトカイン発現量を Real-time PCR 及び ELISA を使用し評価した。
- 2) P-DM mouse に対して glycyrrhizin の口腔内塗布及び抗 HMGB1 抗体投与をおこなった際の歯周組織・血清中での炎症性サイトカイン及び血糖値に対する影響の評価
P-DM mouse に対して glycyrrhizin の口腔内塗布並びに抗 HMGB1 抗体投与をおこなった際に、歯周組織の炎症を組織学的に評価した。また、歯槽骨の骨吸収像をマイクロ CT で評価した。さらに、歯周組織、血清中双方での HMGB1、RAGE 並びに炎症性サイトカインの発現量を Real-time PCR 及び ELISA を使用し評価するとともに、8 時間空腹時血糖値の測定もおこなった。
- 3) in vitro における HMGB1 阻害効果の検討

マウス歯肉線維芽細胞において *P. gulae* を作用させ炎症性サイトカイン発現を誘発した際に、HMGB1 阻害が炎症性サイトカイン発現量に与える影響の評価をおこなった。また、ヒト歯肉線維芽細胞に LPS を作用させ炎症性サイトカイン発現を誘発した際に、HMGB1 阻害が炎症性サイトカイン発現量に与える影響の評価も同様におこなった。

4. 研究成果

- 1) P-DM mouse において、HMGB1-RAGE axis を介して炎症・血糖値が増悪することを立証するモデルの確立・評価

P-DM mouse では歯周組織において炎症性サイトカインである IL-6、IL-1、TNF- α 及び HMGB1 の mRNA 発現量が対照群の糖尿病モデルマウスより有意な増加を認めることを Real-time PCR で明らかにした。また、血中におけるこれら炎症性サイトカイン量の増加を ELISA にて確認した。

- 2) P-DM mouse に対して glycyrrhizin の口腔内塗布及び抗 HMGB1 抗体投与をおこなった際の歯周組織・血清中での炎症性サイトカイン及び血糖値に対する影響の評価

P-DM mouse の歯肉において炎症性サイトカインである IL-6、IL-1、TNF- α 及び HMGB1、RAGE の mRNA 発現量がプラセボを塗布した対照群の P-DM mouse より有意に減少していることを Real-time PCR で明らかにした。また、血中のこれら炎症性サイトカインが減少していることを ELISA にて確認した。さらに、glycyrrhizin 口腔内塗布群ではプラセボ群と比較して8時間空腹時血糖値が抑制されることも確認した。しかしながら、glycyrrhizin 口腔内塗布による歯周組織破壊と歯槽骨吸収の抑制はそれぞれ組織染色とマイクロ CT による比較では認められなかった。

- 3) in vitro における HMGB1 阻害効果の検討

glycyrrhizin を作用させた際の炎症性サイトカイン発現について、マウス歯肉線維芽細胞に菌体を直接作用させた際に、glycyrrhizin を添加していない対称群と比較して、添加した群では IL-6、TNF- α の mRNA 発現量が有意に減少した。同様にヒト歯肉線維芽細胞に LPS を作用させた際にも、対称群である LPS のみ作用させた群と比較して、glycyrrhizin を添加して LPS を作用させた群では炎症性サイトカインである IL-6、TNF- α の mRNA 発現量が有意に減少している事を Real-timePCR にて明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 芥川 桂一
2. 発表標題 歯周炎を誘発した糖尿病モデルマウスに対するglycyrrhizinの作用について
3. 学会等名 第58回広島大学歯学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------